

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan penyakit seluler dengan ciri adanya sifat pertumbuhan yang tidak terkendali (Hanahan dan Weinberg, 2000). Dalam daftar Badan Keamanan Dunia (WHO) penyakit kanker masuk dalam urutan teratas dari kelompok penyakit (Mulyadi, 1997). Di Indonesia diperkirakan setiap tahunnya terdapat 100 penderita kanker yang baru dari setiap 100.000 penduduk menurut hasil dari survei kesehatan Rumah Tangga (Departemen Kesehatan R.I), kematian yang disebabkan kanker meningkat dari tahun ke tahun (Anonim, 1995). Hingga saat ini kanker leher/mulut rahim masih menempati urutan pertama penyakit yang paling banyak menyerang wanita di Indonesia. Sementara di dunia, penderita kanker ini terbanyak kedua setelah kanker payudara (Mardiana, 2004).

Kanker adalah penyakit yang ditandai oleh adanya pertumbuhan yang tidak terkontrol yang mengarah pada proses invasi ke jaringan sekitar dan menyebar (metastasis) ke bagian tubuh lain (King, 2000). Akibatnya adalah pembengkakan atau benjolan yang disebut tumor atau neoplasma (Lat. neo = baru, plasma = bentukan) (Tjay dan Rahardja, 2002). Dalam perkembangannya, sel-sel kanker ini dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya sehingga dapat menyebabkan kematian (Anonim, 1995). Sel kanker dapat dibedakan dengan sel normal antara lain; sel kanker tidak mempunyai kontrol pertumbuhan; daya lekat sel kanker berkurang atau bahkan sudah tidak ada (Mulyadi, 1997).

Kanker leher/mulut rahim (serviks) adalah kanker yang menyerang bagian ujung bawah rahim yang menonjol ke vagina (liang senggama) (Mardiana, 2004). Penelitian akhir-akhir ini mendapatkan hubungan antara berbagai cara klinis - epidemiologi - patologik dan serologik antara infeksi virus papiloma (*Human Papiloma Virus* = HPV) dengan lesi prakanker serviks membuat dugaan kuat bahwa infeksi virus papiloma adalah cikal bakal karsinoma serviks (Anonim, 1993). Kemungkinan faktor etiologi lainnya seperti rokok, hormon (termasuk kontrasepsi) dan nutrisi (vitamin) perlu dipertimbangkan.

Ada bermacam-macam cara penanganan kanker, antara lain pembedahan, penyinaran, kemoterapi, hormon terapi, imunoterapi, dan hipertermi (Tjay dan Rahardja, 2002). Namun usaha-usaha ini belum memperoleh hasil yang memuaskan (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995). Kegagalan ini antara lain karena rendahnya selektifitas obat antikanker yang digunakan ataupun patogenesis kanker yang belum jelas benar (Meiyanto dan Sugiyanto, 1997).

Penelitian di bidang farmasi akhir-akhir ini juga memiliki kecenderungan untuk meneliti khasiat tanaman tradisional yang diduga kuat memiliki aktivitas farmakologis. Beberapa peneliti melaporkan bahwa bahan-bahan dari tanaman memiliki potensi sebagai regulator negatif *onkogen* dan regulator positif gen *suppressor*, sehingga berpotensi sebagai antikanker (Cardenas *et al.*, 1998).

Studi yang terdahulu menunjukkan bahwa ceplukan sebagai stimulan sistem imun yang efektif toksik pada beberapa tipe kanker dan sel leukimia, serta memiliki efek anti mikroba. Steroid baru yang ditemukan pada ceplukan menjadi

pusat perhatian dan banyak diantaranya digunakan sebagai aksi antikanker, antitumor dan antileukimia (Hsieh *et al.*, 2006).

Berdasarkan penelitian Chiang HC, dkk (1992), fisalin F dan fisalin D diisolasi dan dikarakterisasi dari ekstrak etanolik seluruh bagian tanaman dari *Physalis angulata* L. (Solanaceae). Fraksinasi sistematis dari ekstrak etanolik menunjukkan karakteristik fisalin F dari fraksi PAIV-2 sebagai bahan aktif yang menunjukkan sitotoksitas secara *in vitro* dengan DEA dan MTT assay. Fisalin F juga memiliki efek anti tumor secara *in vitro* dalam melawan P388 *Lymphocytic leukemia* pada tikus sedangkan fisalin D tidak aktif pada *in vitro* dan *in vivo*.

Ekstrak etanol ceplukan (*Physalis angulata* L.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan IC₅₀ sebesar 36,674 µg/ml (Sutrisna, 2006).

Ekstrak etanol merupakan ekstrak dengan kandungan senyawa yang masih beragam. Oleh karena itu perlu dilakukan fraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya dengan pelarut yang sesuai sehingga diperoleh fraksi-fraksi tertentu. Setelah dilakukan penelitian dapat diketahui fraksi mana yang memiliki aktivitas antikanker.

Berdasarkan tingginya angka kejadian kanker *cervix* di Indonesia dan berdasarkan penelitian yang sudah ada yang menyatakan bahwa ekstrak etanolik tanaman ceplukan mempunyai efek sitotoksik terhadap beberapa tipe sel kanker, maka perlu dilakukan penelitian tentang efek sitotoksik fraksi etil asetat ekstrak etanolik tanaman ceplukan terhadap beberapa sel kanker diantaranya sel HeLa.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini diarahkan untuk menjawab permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa?
2. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) mampu menghambat kinetika proliferasi sel HeLa?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui efek sitotoksik fraksi etil asetat ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) terhadap sel HeLa.
2. Mempelajari pengaruh fraksi etil asetat ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) terhadap kinetika proliferasi sel HeLa.

D. Tinjauan Pustaka

1. Kanker

Kanker adalah penyakit seluler yang pertumbuhannya tidak terkendali karena terjadi gangguan pada pengaturan proliferasi sel dan fungsi homeostatis. Kanker merupakan *the outlaw cell* karena tumbuh secara tidak

teratur, melanggar semua kaidah normal, tidak peduli akan kontrol dalam perbanyakannya (Sofyan, 2000).

a. Karakteristik sel kanker

Kanker dalam pengertian sederhana adalah sel yang tumbuh terus-menerus secara tidak terkendali, tidak terbatas, dan tidak normal (abnormal). Dalam kondisi normal, sel hanya akan berkembang biak dengan cara membelah diri jika ada yang mati atau rusak. Sel kanker akan terus mengalami perkembangbiakan meskipun tidak dibutuhkan oleh tubuh. Sel kanker merusak jaringan sel lain yang normal dan menyebar ke organ tubuh lain melalui jaringan ikat, darah, saraf dan jaringan penunjang organ tubuh. Bagian organ tubuh yang terserang sel kanker akan terhambat pertumbuhannya (Mardiana, 2004).

Kanker sering dikenal oleh masyarakat sebagai tumor, padahal tidak semua tumor adalah kanker. Tumor adalah semua benjolan tidak normal atau abnormal yang bukan radang. Tumor dibagi dalam dua golongan, yaitu tumor jinak dan tumor ganas. Kanker adalah istilah umum untuk tumor ganas. Sel tumor pada tumor jinak bersifat tumbuh lambat, sehingga tumor jinak pada umumnya tidak cepat membesar. Sel tumor mendesak jaringan sehat sekitarnya secara serempak sehingga terbentuk serabut pembungkus yang memisahkan jaringan tumor dari jaringan sehat, sehingga pada umumnya tumor jinak mudah dikeluarkan dengan cara operasi, dan pada umumnya tidak akan kambuh lagi. Sel tumor pada tumor ganas (kanker) tumbuh cepat, sehingga tumor ganas pada umumnya

cepat menjadi besar. Sel tumor ganas tumbuh menyusup ke jaringan sehat sekitarnya dan dapat membuat anak sebar (metastasis) ke bagian alat tubuh lain yang jauh dari tempat asalnya melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening dan tumbuh kanker baru di tempat lain (Anonim, 1995).

Bentuk-bentuk tumor dinamakan menurut jaringan tempat neoplasma berasal yaitu :

- 1). Adenoma : benjolan maligne pada kelenjar, misalnya pada prostate dan mamma.
- 2). Limfoma : kanker pada kelenjar limfe, misalnya penyakit (non) Hodgkin dan p. Burkitt yang berciri benjolan rahang.
- 3). Sarkoma : neoplasma ganas yang berasal dari pembuluh darah , jaringan ikat, otot atau tulang, misalnya sindroma Kaposi, suatu tumor pembuluh di bawah kulit tungkai bawah dengan bercak-bercak merah.
- 4). Leukimia : kanker darah yang berhubungan dengan produksi leukosit yang abnormal tinggi dan eritrosit sangat berkurang.
- 5). Myeloma : kanker pada sum-sum tulang, misalnya penyakit Kahler (*multiple myeloma*) dengan pertumbuhan liar sel-sel plasma di sum-sum. Sel plasma termasuk lekosit dan membentuk antibodi.
- 6). Melanoma : neoplasma kulit yang luar biasa ganas, terdiri dari sel-sel pigmen yang dapat menyebar dengan pesat (Tjay dan Rahardja, 2002).

Sel kanker memiliki keadaan fisiologis yang berbeda dibanding sel normal, karena sel telah mengalami perubahan genetik. Secara umum sel kanker mempunyai ciri-ciri :

1) Memiliki kemampuan untuk memenuhi sinyal pertumbuhan sendiri

Sel normal membutuhkan *mitogenic growth sinyal* (GS), yaitu sinyal pertumbuhan mitogenik sebelum dapat beraktivitas setelah fase istirahat untuk memasuki fase proliferasi. Sinyal tersebut ditransmisikan ke dalam sel melalui reseptor transmembran yang mampu berikatan dengan molekul sinyal tertentu (sel normal tidak berproliferasi sebelum distimulasi oleh sinyal tersebut). Sedangkan pada sel kanker menghasilkan beberapa sinyal pertumbuhan sendiri dengan mengurangi ketergantungan pada stimulasi dari jaringan normal sekitarnya. Hilangnya ketergantungan sinyal secara eksogen merusak mekanisme homeostatis penting yang secara normal berfungsi menjaga keseimbangan bermacam-macam sel dalam jaringan (Hanahan dan Weinberg, 2000).

2) Hilangnya sensitivitas sel terhadap sinyal antiproliferatif

Dalam sel normal antiproliferatif bekerja untuk menjaga keteraturan sel dan homeostatis jaringan. Sinyal anti pertumbuhan dapat memblokir proliferasi dengan dua mekanisme yang berbeda, yaitu sel dipaksa keluar dari fase proliferasi yang aktif menuju fase istirahat *Go* atau sel diinduksi untuk melepaskan potensi proliferasi secara permanen dengan diinduksi untuk memasuki fase *post mitotic*. Sel

kanker mampu menghindar dari sinyal anti pertumbuhan yang berhubungan dengan daur sel, salah satu mekanismenya adalah dengan rusaknya gen *pRb* (Sofyan, 2000).

- 3) Kehilangan kemampuan apoptosis (kemampuan untuk membunuh sel itu sendiri)

Resistensi kanker terhadap mekanisme apoptosis didapat dengan berbagai macam cara, yang secara umum melibatkan *p53* (*tumor suppressor gene*). Protein ini mencegah replikasi dari DNA yang rusak pada sel normal dan mendorong penghancuran sendiri dari sel yang memiliki DNA yang tidak normal, peristiwa ini disebut apoptosis (Sofyan, 2000). Mutasi dari gen *p53* ini menyebabkan proliferasi dan transformasi sel menjadi tidak terkendali.

- 4) Memiliki potensi replikasi yang tidak terbatas

Adanya kemampuan sel untuk memenuhi kebutuhan sinyal pertumbuhan dan kemampuan untuk menghindar dari mekanisme apoptosis, maka sel kanker memiliki kemampuan untuk bereplikasi tak terbatas (Hanahan dan Weinberg, 2000). Kemampuan bereplikasi tidak terbatas ini berkaitan dengan enzim telomerase yang menjaga integritas dari telomer pada kromosom dimana pada sel normal telomer akan mengalami degradasi (pemotongan) pada saat sel mengalami replikasi (Weinberg, 1996). Sehingga sebagian besar sel kanker yang ditumbuhkan dalam kultur tampak kehilangan kontak dan sel kanker menjadi *immortal* karena pertumbuhan tak terbatas.

5) Kemampuan sel melakukan metastasis dan invasi

Sel kanker dapat melakukan invasi ke jaringan lain masuk peredaran darah sehingga dapat mengalami metastasis. Sel kanker dapat terlepas dan menempel pada jaringan lain, hal ini mengakibatkan sel kanker dapat membentuk koloni di jaringan yang lain (Hanahan dan Weinberg, 2000).

6) Mampu memacu terjadinya angiogenesis

Sel kanker mempunyai substansi yang dapat memacu terbentuknya pembuluh darah baru, proses ini dinamakan angiogenesis. Pembuluh darah tersebut berfungsi untuk mensuplai kebutuhan nutrisi dan pembuangan zat-zat yang tidak bermanfaat sehingga sel kanker dapat terus bertahan hidup (Anonim, 2001). Untuk berkembang menjadi masa yang besar, maka kanker harus memiliki kemampuan angiogenesis (Hanahan dan Weinberg).

b. Karsinogen dan karsinogenesis

Karsinogen secara umum dapat diartikan sebagai penyebab penyakit kanker. Penyakit kanker hingga kini dapat digolongkan menjadi 3 faktor yaitu : fisika, virus, dan senyawa kimia (senyawa karsinogen) (Mulyadi, 1997).

Zat karsinogen adalah zat yang dapat mengakibatkan tumor pada kontak dengannya (lokal, inhalasi) atau secara oral (usus) (Tjay dan Rahardja, 2002). Senyawa-senyawa dari sumber alam yang dibuat sintesis, sisa-sisa dari industri batu bara, industri minyak, zat warna, bahan

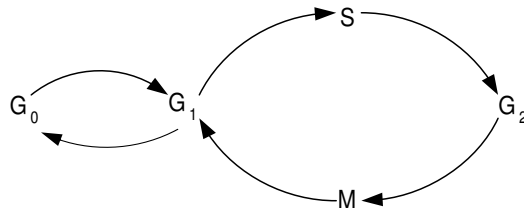
tambahan pada makanan dan minuman, kondensat rokok merupakan senyawa karsinogen, salah satu penyebab penyakit kanker.

Berdasarkan studi penyebaran penyakit dan dari data laboratorium diperkirakan bahwa senyawa karsinogen yang terdapat dalam lingkungan dan makanan-minuman merupakan penyebab kanker yang terbesar. Diduga sekitar 70-90% penderita kanker disebabkan oleh senyawa karsinogen. Struktur senyawa karsinogen sangat beraneka ragam, sehingga sukar untuk dapat menentukan suatu senyawa bersifat karsinogen atau tidak (Mulyadi, 1997).

Karsinogenesis adalah suatu proses yang memberikan hasil suatu transformasi sel normal menjadi sel neoplastik yang disebabkan oleh perubahan genetik yang menetap atau mutasi (Underwood, 1999). Karsinogenesis dari suatu sel kanker yang memperbanyak diri dan membentuk koloni kecil dalam jaringan yang sama. Selanjutnya terjadi perubahan genetik (seperti aktivitas *onkogen*) yang menyebabkan koloni dari sel abnormal ini menjadi malignan (Schneider, 1997).

c. Siklus pembelahan sel kanker

Sel kanker pada dasarnya memiliki daur sel yang sama dengan sel normal, dapat berada dalam tiga keadaan; sel yang sedang membelah atau dalam siklus proliferasi, sel dalam keadaan istirahat (tidak membelah), dan sel yang secara permanen tidak dapat membelah (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995). Skema pembelahan sel kanker dapat dilihat pada gambar 1.



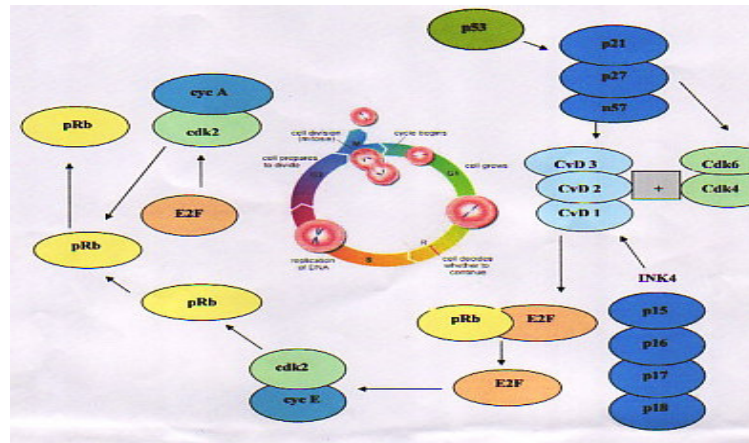
Gambar 1. Skema Pembelahan Sel pada Sel Kanker (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995)

Sel tumor yang sudah membelah terdapat dalam beberapa fase yaitu fase mitosis (M), pasca mitosis (*G1*), fase sintesis DNA (fase S) dan fase pramitosis (*G2*). Pada akhir fase *G1* terjadi peningkatan RNA disusul dengan fase S yang merupakan saat terjadinya replikasi DNA. Setelah fase S berakhir, sel masuk dalam fase pramitosis (*G2*) dengan ciri sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada sel fase lain dan masih berlangsungnya sintesis RNA dan protein. Sewaktu fase mitosis berlangsung (fase M) sintesis protein dan RNA berkurang secara tiba-tiba dan terjadi pembelahan menjadi 2 sel. Selain itu sel dapat memasuki interfase untuk kembali memasuki fase *G1*. Inilah saat berproliferasi atau memasuki fase istirahat (*G₀*). Sel pada fase *G₀* masih potensial untuk berproliferasi disebut sel klorogenik atau sel induk (*stem cell*), jadi yang dapat menambah jumlah sel kanker adalah sel yang dalam siklus proliferasi dan dalam fase *G₀* (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995).

d. Regulasi *cell cycle*

Regulasi daur sel (*cell cycle*) menentukan proses pertumbuhan sel. Pada sel kanker terjadi regulasi abnormal dari *cell cycle* tersebut. Kanker

muncul dari akumulasi perubahan genetik yang menyebabkan sel berkembang tanpa kontrol dan perubahan ini melibatkan empat sampai enam perubahan genetik (Hanahan and Wienberg, 2002). *Cell cycle progression* ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Cell Cycle Progression dan Regulator-regulatornya (Meiyanto, 2001)

Adanya sinyal ekstra seluler akan menginduksi *cyclin D (CycD)*. Fosforilasi *pRb* oleh *Cdk 4/6* terjadi melalui pembentukan kompleks *CycD* dengan *Cdk 4/6*. Fosforilasi *pRb* menyebabkan *E2F* lepas dari kompleks *pRb* dengan *E2F*.

E2F merupakan faktor transkripsi *CycE*, *CycA*, dan protein-protein lainnya yang terlibat dalam regulasi *cell cycle*. *CycE* dan *CycA* membentuk kompleks dengan *Cdk2* dan melanjutkan fosforilasi *pRb*. *E2F* yang dihasilkan menginduksi gen-gen esensial untuk proses sintesis dan proses mitosis. Proses tersebut dapat dihambat oleh protein *p53*, *Cip/Kip* (*p21,p27*), *INK4* (*p15,p16*, *p18*, *p19*) yang merupakan penghambat *Cdk*.

Regulasi *cell cycle progression* juga diatur oleh famili protein *INK4* yang merupakan penghambat *Cdk-4* dan *Cdk-6*. *INK4* berikatan dengan *Cdk4/6* dan memacu terlepasnya *CycD* yang kemungkinan terdegradasi. Dengan terlepasnya kompleks *CycD* maka *Cdk-4* menjadi inaktif. Hal ini yang mengakibatkan *pRb* tidak terfosforilasi sehingga *E2F* inaktif dan tidak terjadi *cell cycle*. *Cip/Kip* secara spesifik menginaktivasi *CycE-Cdk2* sehingga menyebabkan terjadinya *G1 arrest*. Pada sel kanker, regulasi tersebut berubah karena sel kanker memiliki kemampuan menghasilkan sinyal pertumbuhan sendiri ataupun hanya membutuhkan sedikit sinyal dari lingkungannya dan tidak memiliki respon terhadap stimulus negatif yang dapat menghentikan pertumbuhan sel (King, 2000).

e. Penanggulangan kanker

Hingga kini pengobatan neoplastik atau kanker dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu : pembedahan, radiasi, dan dengan pemberian obat antineoplastik atau antikanker (Mulyadi, 1997). Selama ini cara yang banyak ditempuh oleh para penderita adalah dengan pengobatan medis (melalui dokter). Pengobatan medis tersebut antara lain dengan operasi, radioterapi, kemoterapi, hormonal terapi, dan imunoterapi (Mardiana, 2004). Kemoterapi kanker berusaha memanfaatkan sifat-sifat tertentu dari sel tumor. Dengan dasar tersebut, yang paling sering diterapkan adalah pemakaian anti metabolik atau zat pengalkil untuk mengusik program pembelahan sel (Smith dan Williams, 1983).

Selain pengobatan secara medis, saat ini telah berkembang teknik pengobatan dengan menggunakan tanaman obat. Terbukti tanaman obat mampu mengurangi dan menghambat perkembangan sel kanker dalam tubuh. Bahkan, tidak sedikit penderita kanker yang sembuh total setelah mengkonsumsi ramuan tanaman obat dalam jangka waktu tertentu (Mardiana, 2004).

2. Kanker *cervix*

Kanker *cervix* di negara-negara yang maju menempati urutan setelah kanker payudara, kolorektum dan endometrium, sedangkan di negara-negara berkembang kanker *cervix* menempati urutan pertama (Anonim, 1993).

Kanker *cervix* adalah kanker yang terjadi pada *cervix uterus*, suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke arah rahim yang terletak antara rahim (uterus) dan liang senggama (vagina) (Riono, 1999). Kanker *cervix* terjadi karena adanya HPV (*Human Papiloma Virus*). Hal itu dapat dibuktikan karena DNA virus HPV dapat ditemukan menjadi satu di dalam DNA yang diambil dari penderita karsinoma *cervix*. Kelompok virus ini telah diketahui mempunyai kemampuan menyebabkan proliferasi sel epitel, yang keadaan tersebut kelompok virus menyebabkan terjadinya pertumbuhan berpapil-papil (Underwood, 1999). Tetapi, infeksi virus yang hanya sekali tidak dapat menginisiasi munculnya sel kanker. Terjadinya kanker merupakan fungsi dari waktu dan parahnya infeksi virus yang ditularkan (King, 2000).

Kanker leher rahim merupakan salah satu jenis kanker yang dapat ditemukan pada stadium dini. Cara menemukannya adalah dengan pemeriksaan contoh sel yang diambil dari lendir leher rahim yang disebut tes papanicolaou atau “Pap Smear” (Anonim, 1995).

3. Sel HeLa

HeLa *cell lines* merupakan *continous cell lines* yang tumbuh sebagai sel yang semi melekat. Sel HeLa diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim (*cervix*) manusia. Sel ini diisolasi sejak tahun 1951 dari rahim wanita penderita kanker leher rahim, berasal dari Baltimore yang bernama Henrieta Lacks (31 tahun). HeLa merupakan singkatan namanya (Julia, 2001).

Media yang digunakan pada kultur sel HeLa adalah RPMI-1640-serum. Media RPMI mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam-garam anorganik dan glukosa. Sedangkan serum mengandung hormon yang dapat memacu pertumbuhan sel, albumin merupakan protein transport, lipid yang diperlukan untuk pertumbuhan sel dan mineral yang merupakan kofaktor enzim. Seluruh komponen dalam media RPMI-serum tersebut digunakan untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel untuk tetap bertahan hidup dan memperbanyak diri (Freshney, 1987).

4. Skrining aktifitas tanaman obat Indonesia

Kemajuan di bidang ilmu kedokteran diikuti pula dengan kemajuan di bidang obat-obatan. Berbagai obat-obatan farmasetik berkembang dengan pesat, namun para ahli mengakui bahwa tidak semua penyakit telah dapat diatasi dengan obat-obatan modern. Kini penelitian dan pemanfaatan obat-

obatan tradisional terus ditingkatkan. Beraneka ragam obat tradisional dibuat dari berjenis-jenis tanaman obat. Peningkatan jumlah konsumsi obat-obatan tradisional dan pemakaian bahan kosmetik tradisional serta bahan industri pangan meningkat sejalan dengan kecenderungan masyarakat untuk kembali ke alam (*back to nature*) (Pitojo, 2002).

Usaha penyembuhan kanker dengan obat (farmakoterapi) atau dengan senyawa kimia (kemoterapi) pada umumnya belum mampu memberikan hasil yang memuaskan sehingga dijumpai cara-cara pengobatan alternatif antara lain dengan obat tradisional. Cara pengobatan dengan tanaman obat tradisional tersebut pada umumnya belum mempunyai dasar yang rasional baik secara laboratoris maupun klinis. Dalam rangka memperoleh kebenaran ilmiah tentang khasiat tumbuhan dalam menghambat pertumbuhan kanker maka perlu diuji secara laboratoris maupun klinis efek antikarsinogenik dan identifikasi senyawa berkhasiatnya (Sugiyanto *et al.*, 2003).

Pemanfaatan tanaman ceplukan sebagai obat tradisional sudah mulai dilakukan sejak zaman dahulu. Selain berfungsi sebagai obat tradisional, tanaman ceplukan juga dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau bahkan sebagai tanaman penguji virus kentang. (Pitojo, 2002).

Ceplukan mengandung beberapa macam zat kimia yang bermanfaat bagi pengobatan. Akar dan batang tanaman ceplukan mengandung saponin dan flavonoid. Daun ceplukan mengandung polifenol dan asam klorogenat. Kulit buah ceplukan mengandung senyawa $C_{27}H_{44}-H_2O$. Cairan buah ceplukan mengandung zat gula, dan biji ceplukan mengandung *elaidic acid*. Ceplukan

juga dikenal sebagai tanaman yang berkhasiat dalam perawatan penderita kencing manis. Flavonoid yang tersebar luas pada tanaman ceplukan mempunyai beberapa efek biologis diantaranya sebagai antitumor dalam arti bisa menghambat pertumbuhan sel tumor (Willaman, 1955).

a. Ekstraksi

Metode ekstraksi antara lain:

1). Metode maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari tersebut akan menembus dinding sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Anshel, 1989).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan kurang sempurna (Anshel, 1989).

2). Metode perkolasi

Perkolasi adalah penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain gaya

berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler, dan gaya geseran (friksi) (Anshel, 1989).

Cara perkolasi lebih baik dibanding dengan cara maserasi karena:

- a). Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi (Anshel, 1989).
 - b). Ruangan diantara butir-butir serbuk membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi (Anshel, 1989).
- 3). Ekstraksi dengan alat Soxhlet

Bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas, karton) di bagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu. Wadah gelas yang mengandung kantung diletakkan antar labu penyulingan dengan pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan labu melalui pipa. Labu tersebut berisi bahan pelarut yang menguap mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipet, berkondensasi di dalamnya, menetes ke atas bahan yang diekstraksi dan menarik keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimalnya, secara otomatis dipindahkan ke dalam labu. Dengan demikian zat yang

terekstraksi terakumulasi melalui penguapan bahan pelarut murni berikutnya (Anonim, 1986).

Keuntungan ekstraksi dengan alat Soxhlet adalah bahan pelarut yang dibutuhkan dalam jumlah kecil, juga simplisia selalu baru, artinya suplai bahan pelarut bebas bahan aktif berlangsung secara terus-menerus (pembaharuan pendekatan konsentrasi secara kontinyu). Kelemahannya adalah waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi cukup lama, sehingga kebutuhan energinya tinggi (listrik, gas) (Anonim, 1986).

b. Tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn)

1). Klasifikasi tanaman

Devisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Subclassis	: Sympetalae
Ordo	: Tubiflorae (Solanales, Personatae)
Famili	: Solanaceae
Genus	: <i>Physalis</i>
Species	: <i>Physalis angulata</i> Linn.

(Van Steenis, 1997)

2). Nama lain

Ceplukan juga dikenal dengan nama ciplukan, ceplokan, dan ciplukan (Jawa), cecendet, cecendetan, cecenet (Sunda); yoryoran

(Madura); daun boba dan daun kapo-kapo (Sumatera) (Mangan, 2003).
 Dagameme (ternate), Yoryoran, Angket, Keceplokan, Kopok-kopokan, padang rase, ciciplukan (Bali); Dedes, kenampok (Sasak) (Pitojo, 2002).

3). Manfaat tanaman

Tanaman ceplukan berkhasiat analgetik (penghilang nyeri), diuretik (peluruh air seni), *detoxifies* (penetrat racun), pereda batuk, serta pengaktif fungsi kelenjar-kelenjar tubuh. Khasiat untuk pengobatan kanker ada pada zat saponin yang terkandung pada ceplukan memberikan rasa pahit dan berkhasiat sebagai antitumor dan menghambat pertumbuhan kanker, terutama kanker usus besar. Sementara itu, flavonoidal dan polifenol berkhasiat sebagai antioksidan (Mangan, 2003).

4). Morfologi tanaman

Herba 1 tahun, tegak, tinggi 0,1 – 1 m. Bagian yang hijau berambut pendek atau boleh dikatakan gundul batang berusuk bersegi tajam, berongga helaian daun bulat telur melayang bentuk lanset, dengan ujung runcing, bertepi rata atau tidak, 5 – 15 kali 2,5 – 10,5 cm. Tangkai bunga tegak dengan ujung yang menggantung, langsing, lembayung, 8 – 23 mm, kemudian tumbuh sampai 3 cm. kelopak bercelah 5, berbagi kurang dari separo, dengan taju-taju bersudut 3, runcing, hijau, dengan rusuk yang lembayung. Mahkota bentuk lonceng lebar, tinggi 7 – 9 mm, kuning muda dengan pangkal hijau,

tepian berlekuk 5, tidak dalam, dalam leher dengan noda-noda coklat atau kuning coklat, di bawah tiap noda terdapat kelompokan rambut-rambut pendek, rapat yang berbentuk V. Tangkai sari kuning pucat, kepala sari seluruhnya biru muda. Putik gundul, kepala sari bentuk bonggol kelopak buah yang dewasa menggantung bentuk bulat telur, panjang 2 -4 cm, kuning hijau, berurat lembayung. Buah buni bulat memanjang, pada masak kuning, panjang 14 – 18 mm, dapat dimakan. Asalnya dari Amerika, seluruh Jawa, 1 – 1.550 m. Terdapat di kebun, tegalan, tepi jalan, semak, hutan ringan, dan tepi hutan. (Van Steenis, 1997).

5. Uji sitotoksik

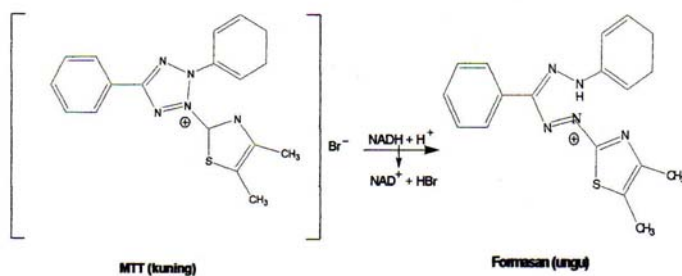
Uji sitotoksik adalah uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksik pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* dan untuk mendapatkan obat-obat sitostatik.

Akhir-akhir ini uji sitotoksik digunakan secara luas menggantikan uji toksisitas secara *in vivo* yang menggunakan hewan. Ada beberapa alasan yaitu *in vitro* sebagai tahap awal mengembangkan obat baru; lebih ekonomis dibanding uji toksisitas secara *in vivo* dan keterbatasan hewan sebagai uji untuk dikorelasikan hasilnya pada manusia karena adanya perbedaan antara kedua spesies (Freshney, 1987). Uji ini merupakan perkembangan metode untuk memprediksi keberadaan obat sitotoksik baru dalam bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker.

Beberapa metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah sebagai berikut:

- Menggunakan biru tripan (*Trypan blue*).
- Menggunakan senyawa aktif radioaktif contohnya tritium berlabel timiden.
- Metode MTT.
- Perhitungan langsung (Juneidi, 2005).

Efek sitotoksik dari ekstrak ditentukan dengan mengukur jumlah sel hidup menggunakan pereaksi MTT, yaitu suatu garam tetrazolium yang dapat dipecah oleh sistem reduktase suksinat-tetrazolium menjadi formazan. Formazan merupakan zat berwarna ungu dan setelah ditambah dengan *stop solution*, intensitas warna ungu yang terbentuk dapat ditetapkan secara spektrofotometri (Sigma, 1999). Dalam hal ini *stop solution* berfungsi untuk mendenaturasi protein (berstruktur kuaterner) menjadi unit rantai polipeptida dan membentuk kompleks SDS-polipeptida dan untuk melarutkan garam formazan (Burgess, 1995). Reaksi reduksi MTT menjadi formazan ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Reaksi Reduksi MTT Menjadi Formazan (Mosmann, 1983)

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto, 2002).

E. HIPOTESIS

Penelitian-penelitian yang berhubungan dengan efek sitotoksik dari tanaman *Physalis angulata* Linn. telah banyak dilakukan. Ekstrak etanol *Physalis angulata* Linn. menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap beberapa *cell line* (Chiang, *et al.*, 1992). Ekstrak etanol daun *P. angulata* menginduksi G2/M arrest dan menginduksi apoptosis pada *human breast cancer* MAD-MD 231 dan MCF-7 *cell line* (Hsieh, *et al.*, 2006). Ekstrak etanol ceplukan (*Physalis angulata* L.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan IC_{50} sebesar 36,674 $\mu\text{g/ml}$ (Sutrisna, 2006).

Dari penelitian-penelitian tersebut dapat disusun suatu hipotesis bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa dan mampu menghambat kinetika proliferasinya.